

Aus der Kinderklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. med. F. H. Dost

Die Stoffwechselkinetik der Galaktose beim Kind

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Alf Kielhorn
aus Bad Nauheim

Gießen 1970

Aus der Kinderklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. med. F. H. Dost

Die Stoffwechselkinetik der Galaktose beim Kind

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Alf Kielhorn
aus Bad Nauheim

Gießen 1970

Aus der Klinik
des Justus-Liebig-Universitäts-Gefäß
Direktor: Professor Dr. med. F. H. J. J. J.

Die Stoffwechselkrankheit der Gichtose beim Kind

INAUGURAL-DISSERTATION



Dekan: Professor Dr. med. E. Habermann
Referent: Professor Dr. med. E. Gladke
Korreferent: Professor Dr. med. G. Gundlach

Gießen 1970

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. E I N F Ü H R U N G

1.1	Galaktose-Belastung und Übersicht über bisherige Verfahren	1
1.2	Stoffwechsel der Galaktose.....	6
1.3	Stoffwechselkinetik	9
1.4	Ermittlung von Stoffwechselstandardgrößen ..	9

2. M E T H O D I K

2.1	Einführung	14
2.2	Bestimmung der Galaktose im Serum.....	14
2.3	Mikrolitermethode.....	15

3. V E R S U C H S A B L A U F

3.1	Chemischer Analysengang.....	16
3.2	Klinischer Versuchsablauf.....	17
3.3	Ermittlung der Stoffwechselstandardgrößen für Galaktose.....	18
3.4	Wiederfindungsversuch	18
3.5	Streuung der Einzelwerte.....	19
3.6	Reliabilität der Versuche.....	20

4. E R G E B N I S S E

4.1	Ergebnisse im Schrifttum	22
4.11	Verlauf der Konzentrationskurven	22
4.2	Eigene Ergebnisse.....	27
4.21	Die Eliminationshalbwertszeit $t_{50\%}$...	27
4.22	Die Eliminationskonstante k_2	29
4.23	Relatives Verteilungsvolumen	31
4.24	Der Nüchternwert c	34
4.25	Der Pool Pl und der Transfer Tf	35
4.3	Ergebnisse eigener Untersuchungen an kranken Kindern	36

5. <u>D I S K U S S I O N</u>	38
6. <u>Z U S A M M E N F A S S U N G</u>	46
7. <u>L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S</u>	48

2. M E T H O D E

2.1 Einführung	49
2.2 Bestimmung der Konzentration im Serum	50
2.3 Mikrobiologische	50

3. V E R M O D E N A U F

3.1 Chemische Analyse	51
3.2 Klinische Untersuchung	51
3.3 Bestimmung der Stoffwechselaktivitäten im Serum	52
3.4 Wiederholungsuntersuchung	52
3.5 Bewertung der Ergebnisse	53
3.6 Reliabilität der Ergebnisse	53

4. E R G E B N I S S E

4.1 Ergebnisse im Serum	54
4.2 Vergleich der Konzentrationen	55
4.3 Ergebnisse im Urin	56
4.4 Die klinische Untersuchung	57
4.5 Die Stoffwechselaktivitäten im Serum	58
4.6 Relative Verteilung	59
4.7 Der Nachweis	60
4.8 Der Pool II und der Standard II	61
4.9 Ergebnisse einzelner Untersuchungen an Kranken und Tieren	62

1. E I N F Ü H R U N G

1.1 Galaktose-Belastungen und Übersicht über bisherige Verfahren.

Kohlenhydrate werden normalerweise nicht als Monosaccharide, sondern als Poly- und Disaccharide aufgenommen. Ein solches Disaccharid ist die Lactose. In freier Form ist sie mit 0,1 bis 8 Prozent hauptsächlich Kohlenhydratbestandteil der Säugermilchen; Lactosegehalt der Milch: Muttermilch etwa sieben Prozent, Kuhmilch etwa vier Prozent. Lactose besteht aus je einem Molekül Glucose und Galaktose. Etwa 20 Prozent des Kalorienbedarfes des jungen Säuglings werden durch Galaktose gedeckt. Dementsprechend fällt das Maximum der Umsatzkapazität für Galaktose in die postnatale Periode. Freie Galaktose findet sich im menschlichen und tierischen Organismus in Milch, Sperma und Harn. Das Blut ist bei fehlender exogener Zufuhr nahezu galaktosefrei.

Nach heutiger Ansicht wird die exogene Galaktose vorwiegend in der Leber umgesetzt. Die Umsatzkapazität der übrigen Organe ist gering, ihre Galaktoseaufnahme wird durch Glucose kompetitiv gehemmt. Nach teilweiser Ausschaltung der Leber durch eine ECK'sche Fistel geht die Ausnutzung oral verabreichter Galaktose im Durchschnitt um etwa 40 Prozent zurück (14). Nach totaler Leberentfernung fällt die Utilisation intravenös verabreichter Galaktose deutlich ab, 60 Prozent davon verliert der Organismus über die Niere, die restlichen 40 Prozent werden extrahepatisch verwertet (4).

Nach direkten Messungen in der vena hepatica des Menschen setzt die Leber bei Blutspiegeln bis zu 30 mg pro 100 ml über 90 Prozent der einströmenden Galaktosemenge um (43, 39, 40).

Somit ist die Galaktose wegen ihrer bevorzugt in der Leber stattfindenden Metabolisierung, wegen der sich daraus ergebenden Möglichkeit ihrer Verwendung als Leberfunktionsprobe und wegen einiger durch Störung ihrer Resorption bzw. ihres Stoffwechsels hervorgerufener Krankheitsbilder interessant geworden.

Erstmals war es BAUER (1), der 1906 eine orale Galaktosebelastung als Leberfunktionsprobe beschrieb, wobei er recht aufwendig die im Urin ausgeschiedene Menge bestimmte. Seine klinischen Beobachtungen, daß Patienten mit Lebercirrhose viermal soviel Galaktose ausschieden als gesunde, wurden tierexperimentell (Unterbindung des ductus choledochus beim Hund) von REISS im Jahre 1912 bestätigt (33). Es wurden dann im Laufe der Jahre verschiedene Modifikationen der Galaktosebelastung beschrieben, die hauptsächlich die Konzentration der Galaktose im Urin genauer bestimmten, oder auch die Dauer der Galaktoseausscheidung im Urin nach oraler Gabe als Maß der Leberfunktion werteten und weniger die ausgeschiedene Galaktosemenge. LUDWIG verwendete 1942 eine "modifizierte Galaktoseprobe", worin er viele Verbesserungsvorschläge zusammenfasste (31). Die ersten Blutgalaktosekurven nach oraler Galaktosebelastung wurde von KAHLER und MACHOLT 1922 (26) beschrieben und 1925 von KÄHLER (25) bestätigt. Von UEXKÜLL bewies 1939 (41), daß dieser Weg als diagnostisches Mittel wesentlich zuverlässiger ist,

als die bis dahin üblichen Methoden mit Galaktosebestimmung im Harn. In der Folgezeit wurden die verschiedensten chemischen Bestimmungsmethoden entwickelt. Im allgemeinen wurden dabei die reduzierenden Substanzen bestimmt, nachdem zuvor die Glucose entfernt worden war. Dies geschah entweder durch Vergärung mit normaler Bäckerhefe oder durch Oxydation mit Glucoseoxydase. Da die Galaktose hierbei nicht angegriffen wird, konnte man sie nach diesem Arbeitsgang als reduzierende Substanz zum Beispiel nach HAGEDORN-JENSEN oder nach NELSON-SOMOGYI bestimmen. Später erfaßte man die zurückbleibende Galaktose mit der Anthron-Methode (SØNDERGAARD, 1958, 38) oder mit Hilfe von O-Toluidin (WATSON, 1963, 47). Allen diesen Methoden, Galaktose im Blut bzw. im Harn nach Entfernung der Glucose zu bestimmen, haftet nicht nur mangelnde Spezifität, Ungenauigkeit und geringe Empfindlichkeit an, sondern auch ein ganz erheblicher Arbeitsaufwand.

Eine moderne Lösung dieses schwierigen analytischen Problems wurde mit der enzymatischen Methode entwickelt. Dabei wird Galaktose in der durch Galaktose-Dehydrogenase katalysierten enzymatischen Reaktion durch Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) zu Galactono-Lacton oxidiert:



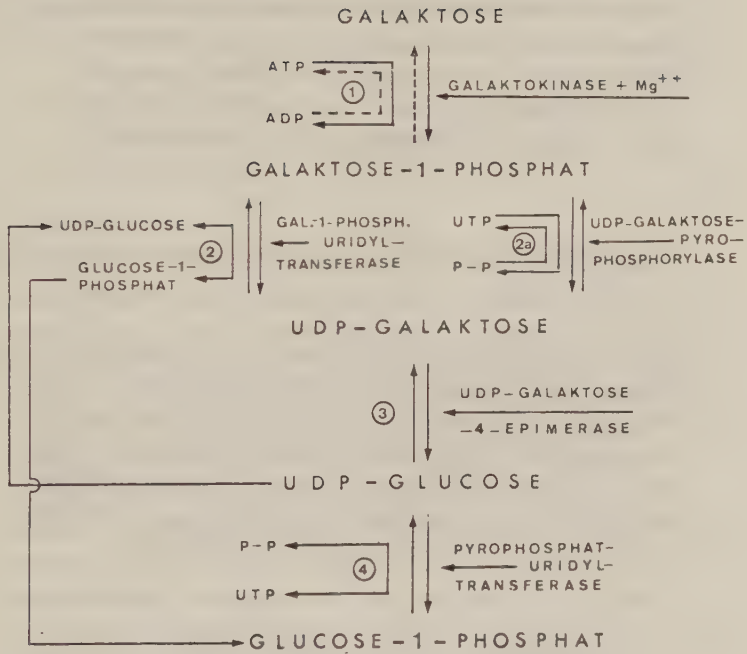
Die während der Reaktion gebildete NADH-Menge ist äquivalent der Galaktose-Menge und kann

aufgrund der Absorption bei 366, 340 und 334 nm photometrisch bestimmt werden (WALLenfELS und KURZ, 1961, 45, WALLenfELS und MALHOTRA, 1961, 46).

Aus vor allem zwei Gründen erschien die Beschäftigung mit der Galaktose bzw. mit dem Umsatz von Galaktose von Interesse.

Bei der Galaktosämie besteht als "inborn error of metabolism" ein Stop im Galaktosemetabolismus, wodurch der Abbau und damit auch die Elimination aus dem Blut verlangsamt wird. Ferner besteht für zahlreiche Funktionen beim Neugeborenen eine Unreife, die sich ebenfalls in einer verlangsamt Elimination für viele Stoffe bemerkbar macht und auch für Galaktose zutreffen könnte.

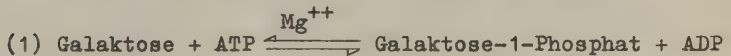
Um bei Kindern durch häufige Blutentnahmen keine Störungen der Homöostase und keine Anämie zu bewirken, mußte zuvor die Galaktose-Bestimmungs-Methode an den Mikrolitermaßstab adaptiert werden.



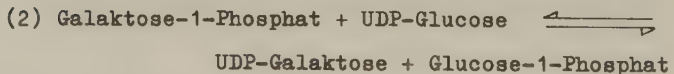
Schema des Galaktosestoffwechsels (modifiziert nach ECKERT, 15). Erläuterung der nummerierten Reaktionsschritte im Text.

1.2 Stoffwechsel der Galaktose

Die wechselseitige Umwandlung von Galaktose und Glucose erfolgt auf dem sogenannten LELAIR-Weg. Nachdem KOSTERLITZ (1937) bereits Galaktose-1-Phosphat als Zwischenprodukt des Galaktoseabbaues erkannt hatte, gelang es LELAIR und seiner Arbeitsgruppe, sämtliche hierfür erforderlichen enzymatischen Reaktionen zu klären (16).



Danach wird Galaktose zunächst an C₁ phosphoriliert. Diese Reaktion wird durch eine spezifische Kinase, die Galaktokinase, katalysiert, wozu außerdem Mg-Jonen erforderlich sind. Phosphoryldonator ist ATP. Das Gleichgewicht dieser Reaktion liegt weit auf der Seite von Galaktose-1-Phosphat. Nach LINNEWEGH (30) ist diese Reaktion sogar irreversibel.

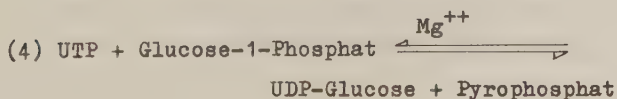


Im zweiten Schritt wird auf Galaktose-1-Phosphat Uridylat aus UDP-Glucose übertragen. Dabei entsteht Glucose-1-Phosphat und UDP-Galaktose. Diese Reaktion ist zwar reversibel, jedoch scheint der umgekehrte Reaktionsablauf keine Rolle zu spielen, da kein Organismus bekannt ist, der den LELAIR-Weg zur direkten Bildung von Galaktose benutzen würde.

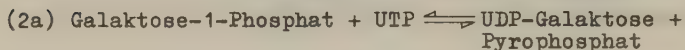
Dieser zweite Schritt ist bei der Galaktosämie des Neugeborenen gestört, da dort das Enzym Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase fehlt (5, 27). Inzwischen wurde bei einem Patienten mit Galaktosämie von GITZELMANN (17) ein Galaktokinasemangel beschrieben.



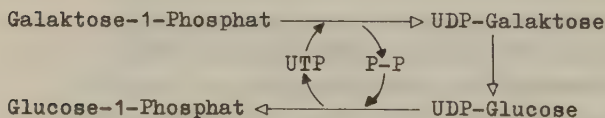
Der nächste Schritt ist die Schlüsselreaktion des LELOIR-Weges: die Umwandlung von Galaktose in Glucose. Dabei wird UDP-Galaktose an C₄ epimerisiert. Katalysator ist die UDP-Galaktose-4-Epimerase. Die dadurch entstandene Glucose steht wieder für die Umsetzung des nächsten Galaktose-1-Phosphates zur Verfügung. Auf diese Weise ist eine fortlaufende Umwandlung von Galaktose-1-Phosphat in Glucose-1-Phosphat möglich. Die UDP-Galaktose-4-Epimerase beansprucht die zentrale Stellung im Galaktose-Stoffwechsel insofern, als die Reversibilität der von diesem Ferment katalysierten Reaktion auch die Neubildung von Galaktose aus Glucose ermöglicht. Bei verschiedenen Mikroorganismen schwindet nach Ausfall dieses Fermentes die Möglichkeit, Galaktose als Energie- und Kohlenstoffquelle für das Wachstum benutzen zu können. Auch für den tierischen Organismus und die höhere Pflanze stellt bisher dieser Weg die einzige Entstehungsmöglichkeit von Galaktose aus dem Intermediärstoffwechsel dar.



In der nächsten Reaktion wird durch die Glucose-1-Phosphat/Pyrophosphat-Uridyltransferase der Cofaktor gebildet für die Umwandlung von Galaktose-1-Phosphat in Glucose-1-Phosphat. Es entsteht aus Glucose-1-Phosphat UDP-Glucose, die in Schritt (2) gebraucht wird, um UDP-Galaktose zu bilden.



Es gibt noch einen Nebenweg, Galaktose abzubauen, und zwar unter Umgehung der Reaktion (2). Dabei wird Galaktose-1-Phosphat mit Hilfe von UTP als Phosphoryldonator und unter Katalyse von UDP-Galaktose-Pyrophosphorylase in UDP-Galaktose umgewandelt (24). Zusammen mit UDP-Galaktose-4-Epimerase und Glucose-1-Phosphat/Pyrophosphat-Uridyltransferase ermöglicht es auch eine Umwandlung von Galaktose-1-Phosphat in Glucose-1-Phosphat:



Abbauewege, die ohne Umwandlung in Glucose verlaufen, treten in ihrer Bedeutung hinter den LELAIR-Weg zurück und sind auf bestimmte Mikroorganismen und niedere Lebewesen beschränkt.

1.3 Stoffwechselkinetik

Das Verhalten der meisten bekannten körperfremden und körpereigenen Stoffe folgt im Prinzip einfachen Regeln, die mathematisch ausdrückbar sind.

Nach Inkorporation verteilen sich diese Substanzen in einem mehr oder weniger exakt definierten Verteilungsraum, ihre Konzentration verhält sich umgekehrt proportional zur Größe dieses Raumes und direkt proportional zur zugeführten Dosis. Die Elimination erfolgt mit wenigen Ausnahmen proportional zur Konzentration, folgt also einer Exponentialfunktion. Die Eliminationsgeschwindigkeit ist ein Maß der Leistungsfähigkeit aller an der Elimination beteiligten Organe oder Organsysteme. Eine Reihe von Substanzen strömt endogen meist als Metabolit dem Blute relativ gleichmäßig zu und wird ebenfalls konzentrationsabhängig eliminiert. Aus dem Zusammenwirken dieser beiden Vorgänge, nämlich dem linearen Zufluß und dem exponentiellen Abfluß, stellt sich ein Fließgleichgewicht (BERTALANFFY, 11) ein, dessen Höhe wir im Blut nachweisen können.

Die Analyse der Konzentrationsverlaufskurve nach einfacher, rascher intravenöser Injektion gestattet in der Regel die Ermittlung der Stoffwechselstandardgrößen, die vor allem über die Eliminationsgeschwindigkeit, das Verteilungsvolumen und bei endogenen Substanzen auch über den Umsatz Auskunft geben (10).

1.4 Ermittlung von Stoffwechselstandardgrößen

Wird eine Substanz in geeigneter Menge zum Beispiel durch intravenöse Injektion rasch dem Körper zugeführt,

so wird sie im Verteilungsraum nach Durchmischung in gleichmäßiger Konzentration nachzuweisen sein und mehr oder weniger rasch eliminiert werden. Die Elimination gehorcht dabei einer speziellen Exponentialfunktion, die folgendermaßen formuliert werden kann:

$$c_t = c_0 \cdot e^{-k_2 t} \quad (1)$$

Es bedeuten:

c_t = Konzentration im Serum zu beliebiger Zeit t

c_0 = fiktive Anfangskonzentration zur Zeit $t=0$

k_2 = Eliminationskonstante

t = Zeit

e = Basis des natürlichen Logarithmus

c = Konzentration zur Zeit t

Dieser Funktion folgen in der Natur viele Vorgänge, wie zum Beispiel Diffusion, Filtration und Absorption. Da die Blutspiegelkurve einen exponentiellen Abfall zeigt, kann man die Eliminationskonstante direkt experimentell bestimmen. Dazu löst man die Beziehung (1) nach k_2 auf:

$$c = c_0 \cdot e^{-k_2 t}$$

$$\frac{c}{c_0} = e^{-k_2 t}$$

$$\ln \frac{c}{c_0} = -k_2 t$$

$$k_2 = \frac{\ln c_0 - \ln c}{t} \quad (2)$$

Die Eliminationskonstante k_2 ist der Parameter für die Eliminationsgeschwindigkeit und in der Dimension Zeit^{-1} die für den betreffenden Stoff charakteristische Standardgröße der Elimination. Sie gibt bei endogenen Stoffen an, wie oft in der Zeiteinheit die im Pool vorhandene Menge der Substanz durch das Blut umgesetzt wird. Die Größe c_0 ist die fiktive Anfangskonzentration, die sich ergeben würde, wenn sich die verabreichte Menge der zu prüfenden Substanz zur Zeit $t = 0$ im Verteilungsvolumen bereits im Diffusionsgleichgewicht befinden würde. Zu ihrer Ermittlung nutzt man die Eigenschaft exponentialer Kurven, sich im halblogarithmischen Raster als Gerade darzustellen. Durch Verlängerung der Geraden bis zum Interzept mit der Ordinate $t = 0$ erhalten wir die fiktive Anfangskonzentration.

Eine weitere Eigenschaft der Exponentialfunktion ist die Konstanz der Zeit, in der die jeweilige Konzentration auf die Hälfte absinkt. Diese Zeit wird Eliminationshalbwertszeit ($t_{50\%}$) genannt (12). Sie läßt sich berechnen, indem man die Gleichung (1) in den Ausdruck

$$t = \frac{1}{k_2} \cdot \ln \frac{c_0}{c_t} \quad \text{überführt und } c_t = \frac{c_0}{2} \text{ setzt:}$$

$$t_{50\%} = \frac{1}{k_2} \cdot \ln \frac{c_0}{\frac{c_0}{2}} = \frac{1}{k_2} = \ln 2$$

$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{k_2} = \frac{0,693}{k_2} \quad (3)$$

Die Eliminationshalbwertszeit ist als Stoffwechselstandardgröße gedanklich leichter faßbar als der abstrakte Begriff der Eliminationskonstanten.

Man kann die Eliminationshalbwertszeit einfach graphisch ermitteln. Dazu werden vier bis fünf Konzentrationswerte nach intravenöser Injektion in ein halblogarithmisches Raster gegen die Zeit aufgetragen. Entsprechend der Tatsache, daß die Elimination proportional zur Zeit im Sinne einer Exponentialfunktion verläuft, ergibt sich eine Gerade, auf der sich die Eliminationshalbwertszeit abgreifen läßt.

Aus der Eliminationshalbwertszeit ergibt sich entsprechend der Beziehung (3) die Eliminationskonstante k_2 :

$$k_2 = \frac{\ln 2}{t_{50\%}} = \frac{0,693}{t_{50\%}} \quad (4)$$

Die meisten Substanzen verbleiben nach intravenöser Applikation nicht im intravasalen Raum, sondern verteilen sich mehr oder weniger im extrazellulären oder sogar intrazellulären Flüssigkeitsraum. Das Verteilungsvolumen (V) entspricht jenem Volumen, in welchem sich die inkorporierte Substanz verteilt. Werte von fünf Prozent bis 25 Prozent des Körpergewichtes als Verteilungsvolumen sprechen für Verteilung im extrazellulären Flüssigkeitsraum, Werte von 50 Prozent bis 70 Prozent für zusätzliches Eindringen in die Zellen. Bei Werten über 100 Prozent, die tatsächlich vorkommen, muß man mit einer Anreicherung in verschiedenen Geweben oder Strukturen rechnen. V ergibt sich aus dem Quotienten aus der Dosis D und der fiktiven Anfangskonzentration c_0 :

$$V = \frac{D}{c_0} \quad (5)$$

Bezieht man das Verteilungsvolumen auf das Körpergewicht, so erhält man das relative Verteilungsvolumen des Stoffes im Organismus , auch Distributionskoeffizient genannt:

$$\Delta' = \frac{V \text{ (ml)}}{G \text{ (kg)}} \quad (5a)$$

V ist ein fiktives Volumen, stellt aber trotzdem einen wertvollen Hilfsbegriff bei der Auswertung kinetischer Untersuchungen dar.

Bei endogenen Stoffen, für die sich im Blute ein "steady state" (BURTON, 11) ausgebildet hat, für die also bereits vor einer intravenösen Belastung eine gewisse Konzentration im Blut nachweisbar ist, ergeben die Werte der Erhöhung der Konzentrationskurve über den Nüchternwert nach intravenöser Belastung die gleichen pharmakokinetischen Daten wie bei körperfremden Stoffen: Eliminationshalbwertszeit, Eliminationskonstante, Verteilungsvolumen. Darüberhinaus erlauben, wie DOST (10) zeigen konnten, diese Kurven bei Kenntnis der Nüchternkonzentration auch die Ermittlung der Umsatzdaten, wie Transfer Tf und Pool Pl:

$$Pl = \Delta' \cdot c^* \quad (c^* = \text{Nüchternkonzentration}) \quad (6)$$

$$Tf = k_2 \cdot Pl \quad (7)$$

2. M E T H O D I K

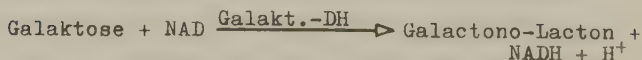
2.1 Einführung

Die bisherigen Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Galaktose beruhen auf einer Bestimmung der reduzierenden Substanzen nach vorangegangener Oxydation der Glucose mit Glucoseoxydase (GOD). Hierbei wird Galaktose nicht angegriffen und kann mit Hilfe zum Beispiel der O-Toluidin-Methode erfaßt werden. Da dieser Methode jedoch mangelnde Spezifität, Ungenauigkeit und ein sehr großer Arbeitsaufwand anhaftet, ist es nicht verwunderlich, daß die Galaktose-Belastung als Leberfunktionsprobe in den letzten Jahren vernachlässigt wurde. Heute bietet sich jedoch mit der enzymatischen Methode mittels Galaktose-Dehydrogenase die spezifischste und zugleich einfachste aller bisher existierenden Nachweismethoden an.

Diese Methode lehnt sich an Angaben von WALLENFELS (45) an und sei im Folgenden kurz besprochen.

2.2 Bestimmung der Galaktose im Serum

Galaktose wird in der durch Galaktose-Dehydrogenase katalysierten enzymatischen Reaktion durch Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) zu Galactono-Lacton oxydiert.



Die während dieser Reaktion gebildete NADH-Menge ist der Galaktosekonzentration äquivalent und kann aufgrund seiner Absorption bei 366 nm, 340 nm oder 334 nm leicht photometrisch bestimmt werden. Für diese Arbeit wurde dazu die "Biochemica-Test-Combination Galactose" der Firma BOEHRINGER Mannheim GmbH benutzt. ROMMEL und Mitarbeiter hatten die praktische Verwendbarkeit sowie die hohe Spezifität und den geringen Arbeitsaufwand dieser enzymatischen Bestimmung bei Erwachsenen klinisch getestet (35, 36).

2.3 Mikrolitermethode

Um bei Säuglingen und anämischen Kindern größere Untersuchungsserien und Funktionstests mit mehrfachen Blutentnahmen durchführen zu können, setzt sich in der Kinderklinik immer mehr die Mikrolitertechnik durch (18). Dadurch werden nicht nur sämtliche Volumina bei der Analyse gegenüber der Millilitertechnik um ein oder zwei Zehnerpotenzen reduziert, sondern auch die für die Blutgewinnung benötigte Zeit wird deutlich verkürzt. Größere Veränderungen in der Eliminationskinetik sind also nicht zu befürchten.

Die Analysen wurden mit der Mikroliterausrüstung zum Photometer EPPENDORF (Firma NETHELER und HINZ) durchgeführt. Die Messungen erfolgten in Mikrodurchflußküvetten mit 10 mm Schichtdicke.

3. VERSUCHSABLAUF

3.1 Chemischer Analysengang

Die erwähnte enzymatische Bestimmungsmethode wurde an den Mikrolitermaßstab adaptiert, dadurch konnte die zur Analyse einzusetzende Blutwente auf 20 µl reduziert werden.

Lösungen

- (1) Puffer (0,1 m Tris-Puffer, pH = 8,6)
- (2) NAD (0,013 m Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid)
- (3) Galaktose-Dehydrogenase (5 mg pro ml)

(Die Lösungen wurden der Biochemica-Test-Combination der Firma BOEHRINGER GmbH, Mannheim, entnommen).

- (4) Uranylacetat zum Enteiweißen (0,0038 Mol Uranylacetat und 0,16 Mol NaCl mit Wasser auf 100 ml auffüllen).

Der Analysengang war folgender:

200 µl Uranylacetat
20 µl Kapillarblut

mischen, vier Minuten zentrifugieren, dann

50 µl Überstand
20 µl Lösung (2) NAD
500 µl Lösung (1) Puffer

mischen und hiervon eine Probe von 200 µl mit Filter 366 nm messen. Zu dem Rest

5 µl Lösung (3) Galaktose-Dehydrogenase

hinzugeben, mischen, nach zehn Minuten, das heißt nach Reaktionsstillstand erneut mit Filter 366 nm im Photometer messen. Die Einzelmessung wird gegen Wasser durchgeführt.

Für Werte bis zu 200 mg Galaktose pro 100 ml läuft die Eichkurve beim geschilderten Ansatz linear und durch den Nullpunkt.

Zur Berechnung der Galaktosekonzentration wird die gemessene Extinktion auf die Extinktion der durch Einwaage und Verdünnen hergestellten Eichlösung bezogen. Kontrollen der Eichkurve in größeren zeitlichen Abständen ergaben keine Abweichungen der einzelnen Messwerte.

3.2 Klinischer Versuchsablauf

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 147 Probanden aller Altersklassen durchgeführt, unter denen sich auch leberkranke Klein- und Schulkinder befanden.

Bis auf vier Erwachsene handelt es sich um stationäre Patienten bzw. Rekonvaleszenten.

Bei keinem der Probanden bestand ein Anhalt für eine Störung im Galaktose-Stoffwechsel. Bei Säuglingen lag entsprechend dem Fütterungsrhythmus die letzte Mahlzeit vier bis fünf Stunden zurück, bei älteren Kindern und bei Erwachsenen 12 bis 14 Stunden. Zur Ermittlung der Galaktosekonzentration im Fließgleichgewicht (Nüchternwert) wurde zunächst Kapillarblut entnommen; bei Säuglingen aus der Ferse, bei älteren Kindern und Erwachsenen aus der Fingerbeere. Unmittelbar anschließend wurde eine genau abgemessene Menge von etwa 350 mg Galaktose pro kg Körpergewicht in Form einer 20-prozentigen Galaktoselösung zügig intravenös injiziert, bei Säuglingen in eine Kopfvene, bei älteren Kindern und Erwachsenen in eine Kubitalvene.

Als Versuchsbeginn wurde entsprechend der Untersuchung von GLADTKE (19) die Mitte der Injektionszeit gewertet.

Da sich in einer Reihe von Voruntersuchungen zeigte, daß sich bereits zehn Minuten nach der Injektion das Verteilungsgleichgewicht eingestellt hat, wurde nach zwölf Minuten die erste Blutabnahme durchgeführt. Im Abstand von je zwei Minuten folgten vier weitere Abnahmen.

3.3 Ermittlung der Stoffwechselstandardgrößen für Galaktose.

Die durch Abzug des Nüchternwertes c^* erhaltenen Konzentrationswerte $c_t - c^*$ ließen sich nach Auftragung gegen die Zeit im halblogarithmischen Raster stets zwanglos zu einer Geraden verbinden. Die Verlängerung dieser Geraden bis zum Zeitpunkt $t = 0$ ergibt die fiktive Anfangskonzentration $c_0 - c^*$. Die Eliminationshalbwertszeit wird auf der Geraden abgegriffen. Nach Beziehung (4) $k_2 = \frac{\ln 2}{t_{50\%}}$ errechnet sich k_2 , nach Beziehung (5a) der Distributionskoeffizient Δ' , nach Beziehung (6) der Pool Pl und nach Beziehung (7) der Transfer Tf.

3.4 Wiederfindungsversuch

Zu einer Blutprobe mit bekanntem Galaktosegehalt wurde eine bekannte Menge Galaktose zugesetzt. Es wurden 99,2 Prozent der zugesetzten Galaktose wiedergefunden.

mg % Galaktose zugesetzt	$\Delta' E_{366}$	mg % Galaktose gefunden	Prozent
ohne Zusatz	0,0140	9,58	---
+ 50	0,0864	59,19	99,22

$n = 32$, E_{366} = Extinktion bei 366 nm

3.5 Streuung der Einzelwerte

Zur Ermittlung der Standardabweichung s und des Variationskoeffizienten VK wurden von einer Blutprobe 32 Bestimmungen durchgeführt.

TABELLE 1

Nr.	mg%	Nr.	mg%
1	45,8	17	47,2
2	46,5	18	52,0
3	51,3	19	49,3
4	50,6	20	50,0
5	47,2	21	50,0
6	48,6	22	46,5
7	48,6	23	54,1
8	50,0	24	50,6
9	50,0	25	50,6
10	48,6	26	54,7
11	47,2	27	56,8
12	47,2	28	50,6
13	48,6	29	55,4
14	41,7	30	51,3
15	45,8	31	49,3
16	48,6	32	51,3

$$n = 32$$

$$\bar{x} = 49,61 \text{ mg\%}$$

$$s = 3,05 \text{ mg\%}$$

$$VK = 6,14 \%$$

3.6 Reliabilität der Versuche

An Hand von wiederholten Galaktosebelastungen beim gleichen Kind wurde die Reliabilität der Methode geprüft. Dazu wurden sechs Kinder verschiedenen Alters im Abstand von einigen Tagen zweimal belastet. Es ließ sich zeigen, daß die Stoffwechselstandardgrößen auch beim Kind Gültigkeit haben, denn sie sind für das jeweilige Kind charakteristisch. Die gefundenen Abweichungen sind sehr gering, wenn man bedenkt, daß es sich hier um biologische Vorgänge handelt.

TABELLE 2

Proband	$t_{50\%}$ (Min.)	$k_2(h^{-1})$	Δ' (ml/g)
A	10,8	3,85	0,475
A	10,0	4,17	0,293
B	7,4	5,63	0,297
B	6,4	6,48	0,288
C	5,8	7,22	0,234
C	6,2	6,73	0,185
D	12,0	3,47	0,418
D	10,8	3,85	0,353
E	4,4	9,49	0,215
E	4,4	9,49	0,247
F	9,6	4,33	0,135
F	9,4	4,44	0,174
Reliabi- lität	$r = 0,985$	0,983	0,830
	$p < 0,01$	$< 0,01$	$< 0,05$

Damit kann die hier angewendete Methode als statistisch signifikant zuverlässig angesehen werden.

TABELLE 3

Autor	Probanden	K = %/min.	k ₂₁ = h	t _{50%}
Belastung mit 1 g/kg Galaktose i.v.				
CORNBLATH	Frühgeb. < 3 Tage	3,18	1,91	20'
CORNBLATH	Frühgeb. > 3 Tage	3,85	2,31	
DONNEL	Säuglinge	3,5	2,1	
LESTRADET, JOLY, DONGRADI	Kinder 3-16 Jahre	3,56	2,14	23'
DONNEL	Kinder 7-19 Jahre	3,00	1,80	
WYNGAARDEN	Erwachsene	5,1	3,06	16'
DONNEL	Erwachsene	4,4	2,64	
MULLIGAN	Neugeb. 3-6 Std.			
Belastung mit 0,7 g/kg Galaktose i.v.				
HJELM	Neugeborene	3,4	2,04	
HJELM	Erwachsene	6,9	4,14	
Belastung mit 0,5 g/kg Galaktose i.v.				
LESTRADET	Frühgeb. 1-13 Tg	6,4	3,84	10,8'
LESTRADET	Neugeb. < 15 Tg	6,9	4,14	10,0'
THEODORE	Neugeb. 1- 2 Tg	3,5	2,1	19,7'
THEODORE	Neugeb. 3- 7 Tg	3,9	2,34	19,5'
THEODORE	Neugeb. 21-31 Tg	5,8	3,48	16,6'
LESTRADET	Säugl. 1- 8 Mo	6,9	4,14	10,0'
VINK	Kinder bis 10 Ja	6,9	4,14	11,5'
LESTRADET	Kinder 3-13 Ja	6,0	3,6	
COLCHER	Erwachsene	4,2- 9,5	2,52- 5,7	
VINK	Erwachsene	4,9	2,94	< 15'
BERNSTEIN	Erwachsene	3,55	2,13	
Belastung mit 0,350 g/kg Galaktose i.v.				
TENGSTRÖM	Erwachsene	6,0	3,6	12'

4. E R G E B N I S S E

4.1 Ergebnisse im Schrifttum (Tabelle 3)

4.11 Verlauf der Konzentrationskurven

In der Literatur finden sich Angaben, daß nach einer einmaligen intravenösen Galaktosegabe die Konzentrationskurve linear (39, 23), exponential (8, 9) oder in Form einer Zweiphasenkurve kombiniert verläuft, anfangs linear, später exponential (44).

BERNSTEIN (2) fand bei einigen leberkranken Patienten ebenfalls eine Zweiphasenkurve, wobei beide Phasen exponential verlaufen, die zweite allerdings steiler als die erste. Er lehnte es deshalb ab, die Eliminationskonstante als einen klinisch verwertbaren Index der Leberfunktion zu betrachten. Da die verschiedenen Untersucher die Abnahmezeiten der einzelnen Konzentrationswerte sehr unterschiedlich wählten, teilweise bis 120 Minuten nach Versuchsbeginn, schien es notwendig, eigene Untersuchungen über das Eliminationsgeschehen durchzuführen. Es wurden deshalb nach einmaliger intravenöser Galaktosegabe Konzentrationsverlaufskurven über einen längeren Zeitraum verfolgt (2 bis 90 Minuten). Im halblogarithmischen Raster zeigen die Konzentrationswerte gegen die Zeit eine fallende Tendenz und insgesamt keinen linearen Verlauf. Vielmehr sieht man zwischen der vierten und sechsten Minute und um die 25. Minute jeweils einen deutlichen Knick, der beide Male eine Abflachung der Konzentrationskurve bewirkt (siehe Abbildung).

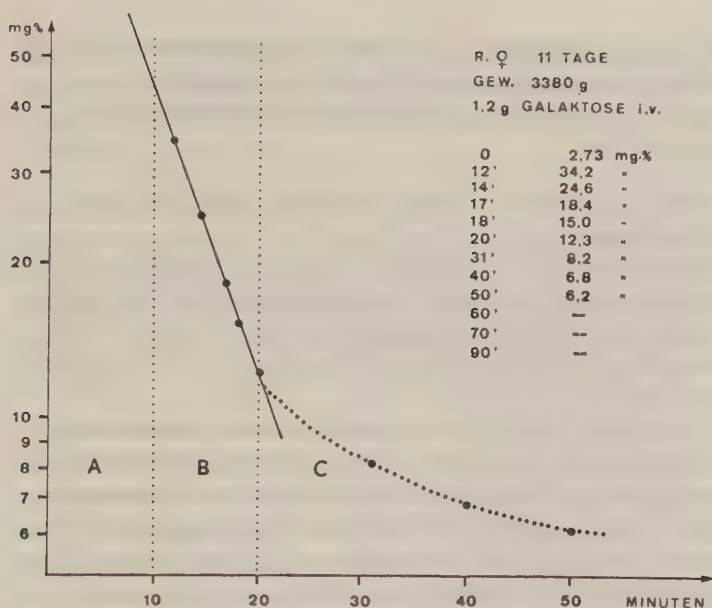


Abb. 1 Originalkurve in verkleinertem Maßstab.

Bei dem ersten steilen Abschnitt A handelt es sich um die Verteilungszeit, die spätestens nach zehn Minuten abgeschlossen ist, wie sich in unseren Versuchen immer wieder bestätigte. Hier stimmen auch die Angaben in der Literatur überein. Es handelt sich dabei anfangs um eine Verteilung der injizierten Galaktose im Blut und dann im gesamten Verteilungsvolumen, bis eine gleichmäßige, vollständige Durchmischung stattgehabt hat.

Der zweite Anteil B der Kurve verläuft im halblogarithmischen Raster stets gradlinig und erfüllt die Bedingungen einer Exponentialfunktion.

Im dritten Abschnitt C läßt sich zwar oft eine Gerade konstruieren, manchmal findet man aber auch eine kontinuierliche Abflachung.

Es ist zu untersuchen, welcher Kurvenabschnitt der reinen, unbeeinflussten Elimination entspricht und somit zur Ermittlung der Stoffwechselgrößen heranzuziehen ist.

Abschnitt A entfällt wegen der noch nicht beendeten Verteilung.

Verwendet man den Kurventeil B zur Bestimmung der Eliminationshalbwertszeit, so werden infolge der größeren Steilheit die Halbwertszeiten kürzer, die fiktiven Anfangskonzentrationen größer und die Verteilungsvolumina kleiner.

Im flacheren Abschnitt C verhält es sich umgekehrt, teilweise sind die darin errechneten Verteilungsvolumina größer als das Volumen des gesamten Körperwassers. Den abflachenden Verlauf im Kurvenabschnitt C könnte man mit einem mehr oder weniger kontinuierlichen Zufluß von Galaktose erklären; es wären eine Rückresorption aus dem Darm, aber auch ein Wiedereinströmen aus dem Intrazellularraum oder anderen tiefen Kompartimenten denkbar. Zu diskutieren wäre auch eine Erweiterung des Verteilungsvolumens durch reaktive Insulinwirkung, wie sie ECKER (15) aus anderem Anlass anzunehmen geneigt ist.

Die im Schrifttum nach intravenösen Belastungen angegebenen Eliminationshalbwertszeiten der Galaktose sind im allgemeinen bis dreimal länger als die hier vorgelegten Ergebnisse. Dies liegt offensichtlich daran, daß die Autoren die Konzentrationen in so großen zeitlichen Abständen ermittelt haben, daß sie den gradlinigen, steilen Kurvenabschnitt B nicht separat von den eliminationsgestörten Abschnitten A und C erfasst haben.

Es ist nach den vorliegenden Untersuchungen unerlässlich, nur den Kurvenanteil zwischen der zehnten und zwanzigsten Minute nach Versuchsbeginn zur Auswertung heranzuziehen,

da nur er mit Sicherheit in seinem Verlauf einer exponentialen Funktion entspricht. Nur dieser Kurventeil ist einer einfachen mathematischen Interpretation zugänglich.

Der Eliminationshalbwertszeit wird von den verschiedenen Untersuchern als Messgröße der Eliminationsgeschwindigkeit häufig die Eliminationskonstante k_2 vorgezogen. Beide Größen sind - wie bereits erläutert - durch folgende Beziehung miteinander verbunden (DOST, 10): $t_{50\%} = \frac{\ln 2}{k_2}$. Hauptsächlich im angelsächsischen Schrifttum wird sie als "galactose elimination rate K" oder "rate constant of elimination" bezeichnet und in Prozent Konzentrationsabfall pro Minute angegeben. Sie läßt sich einfach durch Umrechnen in die Eliminationskonstante k_2 überführen und somit vergleichen. Da der k_2 -Wert damit ebenfalls die Steilheit der Eliminationskurve wiedergibt, differieren die Literaturwerte in gleicher Weise von den vorliegenden Ergebnissen, die teilweise doppelt so groß sind.

Angaben über Verteilungsvolumen Δ^1 , Pool Pl und Transfer Tf von intravenös zugeführter Galaktose liegen im Schrifttum nicht vor. Ebenso fehlen Angaben über Galaktose-Nüchtern-Blutspiegel im Säuglings- und Kindesalter. Die hier an Kindern im Alter von 24 Stunden bis zwölf Jahren gemessenen Werte liegen im Durchschnitt doppelt so hoch wie die in Reihenuntersuchungen ermittelten Galaktose-Nüchtern-Werte bei Erwachsenen (36).

Pathologische Ergebnisse bei intravenösen Galaktosebelastungsproben im Kindesalter werden im Schrifttum übereinstimmend bei Leberzirrhose gefunden.

In diesen Fällen ist die Eliminationshalbwertszeit auffallend verlängert, die Eliminationskonstante k_2 deutlich erniedrigt. Die Ergebnisse bei Kindern mit Hepatitis epidemica werden verschieden beurteilt; sie werden meist als nicht signifikant verändert geschildert.

Die verabfolgte Galaktosemenge reicht von einem Gramm pro Kilogramm Körpergewicht über 700 Milligramm, 500 Milligramm bis zu 350 Milligramm in einer in der Regel 20- bis 25-prozentigen Lösung, die immer in maximal zwei Minuten zügig intravenös injiziert wird.

4.2 Eigene Ergebnisse

4.21 Die Eliminationshalbwertszeit

Zur Ermittlung der Normwerte für die Eliminationshalbwertszeit in den einzelnen Lebensaltern wurden 114 Untersuchungen an reif geborenen Kindern ausgewertet und die Mittelwerte sowie deren Standardabweichungen s ermittelt.

TABELLE 4

Alter	n	$t_{50\%}$ (Min.)	s
1- 3 Tage	8	8,3	1,2
4- 6 Tage	5	8,8	2,0
7-10 Tage	7	8,6	1,5
11-20 Tage	10	7,5	1,2
21-30 Tage	7	6,4	0,8
31-60 Tage	14	7,4	1,0
61-90 Tage	7	6,4	1,3
3- 6 Mon.	8	6,0	1,8
7-12 Mon.	6	6,2	1,6
1- 2 Jah.	15	6,9	1,5
3- 6 Jahr	12	7,1	1,5
7-12 Jah.	15	8,4	1,9
Erwachsene	5	10,0	2,6

Mittelwerte und Standardabweichungen s der Eliminationshalbwertszeiten bei 114 reifgeborenen Kindern und fünf Erwachsenen.

Bei den reifen Neugeborenen wurde in den ersten zehn Lebenstagen eine gegenüber älteren Säuglingen auffallend verlängerte Eliminationshalbwertszeit gefunden, der Mittelwert liegt

bei 8,6 Minuten, die durchschnittliche Standardabweichung bei 1,6. In den folgenden Altersgruppen wird die Eliminationshalbwertszeit rasch kleiner bei etwa gleichgroß bleibenden Streubreiten. Im sechsten Lebensmonat ist der Mittelwert mit sechs Minuten ($s = 1,8$) auf der kürzesten Zeit angelangt, danach steigen die Werte wieder an, um im zwölften Lebensjahr etwa die Werte der ersten zehn Lebenstage wieder zu erreichen: Eliminationshalbwertszeit = 8,4 Minuten, $s = 1,9$. Erwachsene mit einer Eliminationshalbwertszeit um zehn Minuten sind davon statistisch nicht echt unterschieden.

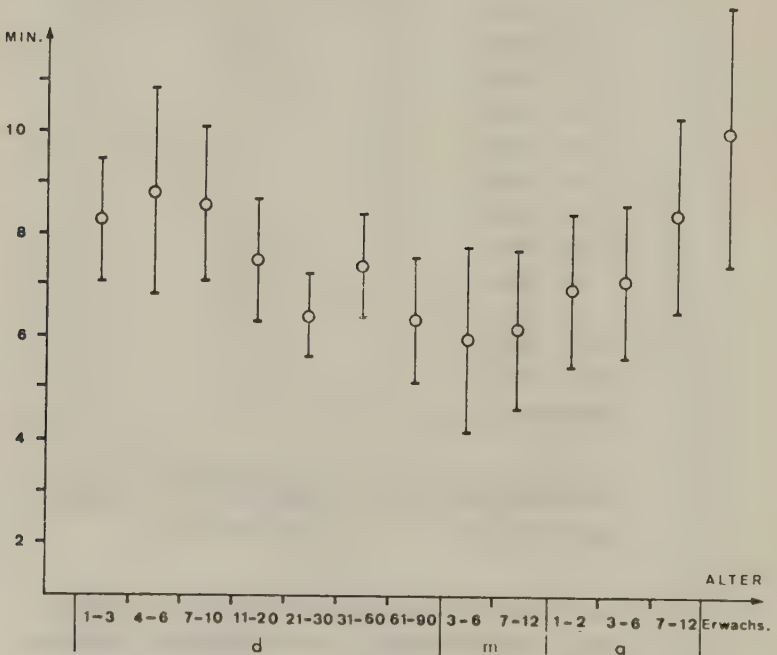


Abb. 2 Mittelwerte der Eliminationshalbwertszeiten in den einzelnen Altersgruppen mit ihren Streubreiten. d = Tage, m = Monate, a = Jahre.

4.22 Die Eliminationskonstante k_2

Entsprechend der Gleichung (4)

$$k_2 = \frac{\ln 2}{t_{50\%}} = \frac{0.693}{t_{50\%}}$$

zeigt die Eliminationskonstante k_2 ein reziprokes Verhalten zur Eliminationshalbwertszeit.

Damit gilt für reifgeborene Kinder sinngemäß das Gleiche, was zur Eliminationshalbwertszeit gesagt wurde. Nur sind die Werte in den ersten Lebensmonaten am kleinsten, steigen bis zum sechsten Lebensmonat an, um dann bis zum zwölften Lebensjahr die Ausgangswerte wieder zu erreichen.

TABELLE 5

Alter	n	k_2 (Std ⁻¹)
1- 3 Tage	8	5,08
4- 6 Tage	5	4,91
7-10 Tage	7	4,99
11-20 Tage	10	5,73
21-30 Tage	7	6,58
31-60 Tage	14	5,74
61-90 Tage	7	6,74
3- 6 Mon.	8	7,44
6-12 Mon.	6	7,09
1- 2 Jah.	15	6,30
3- 6 Jah.	12	6,18
7-12 Jah.	15	5,22
Erwachsene	5	4,39

Mittelwerte der Eliminationskonstanten k_2 bei 114 reifgeborenen Kindern und 5 Erwachsenen.

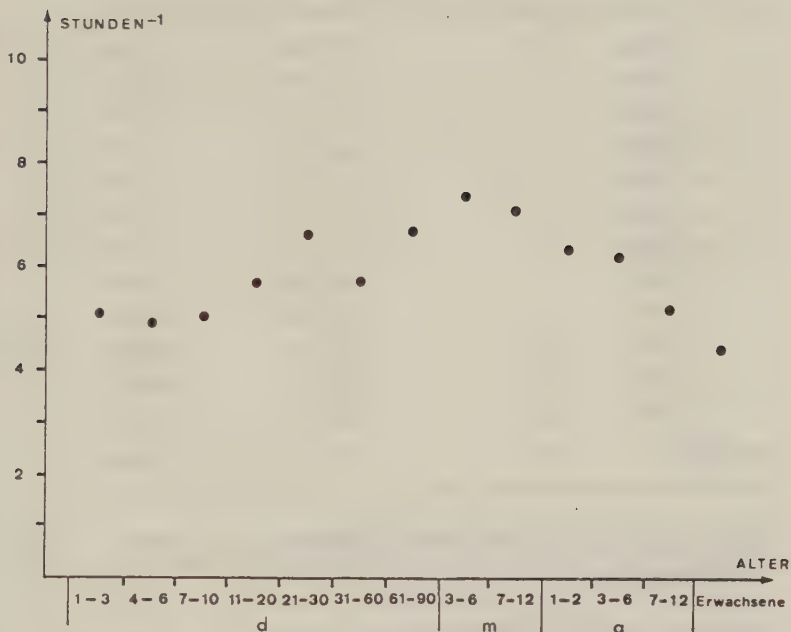


Abb. 3 Mittelwerte der Eliminationskonstanten k_2 ; d = Tage, m = Monate, a = Jahre.

4.23 Das Verteilungsvolumen

Das Verteilungsvolumen Δ^1 , auch Distributionskoeffizient genannt, wurde als relatives Verteilungsvolumen in Milliliter pro Gramm Körpergewicht bestimmt.

TABELLE 6

Alter	n	Δ' (ml/g KGW)	s
1 - 3 Tage	8	0,328	0,067
4 - 6 Tage	5	0,395	0,144
7 -10 Tage	7	0,325	0,109
11 -20 Tage	10	0,331	0,119
21 -30 Tage	7	0,306	0,088
31 -60 Tage	14	0,335	0,158
61 -90 Tage	7	0,207	0,061
3 - 6 Mon.	8	0,239	0,070
7 -12 Mon.	6	0,183	0,038
1 - 2 Jah.	15	0,180	0,053
3 - 6 Jah.	12	0,156	0,053
7 -12 Jah.	15	0,150	0,042
Erwachsene	5	0,125	0,048

Mittelwerte und Standardabweichungen s des Verteilungsvolumens Δ' bei 114 reifgeborenen Kindern und 5 Erwachsenen.

Die Mittelwerte des Verteilungsvolumens Δ' bei reifen Neugeborenen zeigen in den ersten 60 Lebenstagen eine nahezu konstante Größe, sie liegen zwischen 0,306 ml/g KGW und 0,395 ml/g KGW, die Standardabweichungen schwanken zwischen 0,067 und 0,158. Mit zunehmendem Alter werden die Verteilungsvolumina kleiner, die Werte fallen bis auf 0,125 ml/g KGW, auch die Standardabweichungen sind kleiner geworden, die Schwankungsbreite reicht von $s = 0,038$ bis $s = 0,070$. Das Verteilungsvolumen entspricht in etwa dem extrazellulären Flüssigkeitsraum, wenn auch Abweichungen bestehen gegenüber der Bestimmung des extrazellulären Flüssigkeitsraumes mit Thio-sulfat, weniger gegenüber der Bestimmung mit Inulin (20).

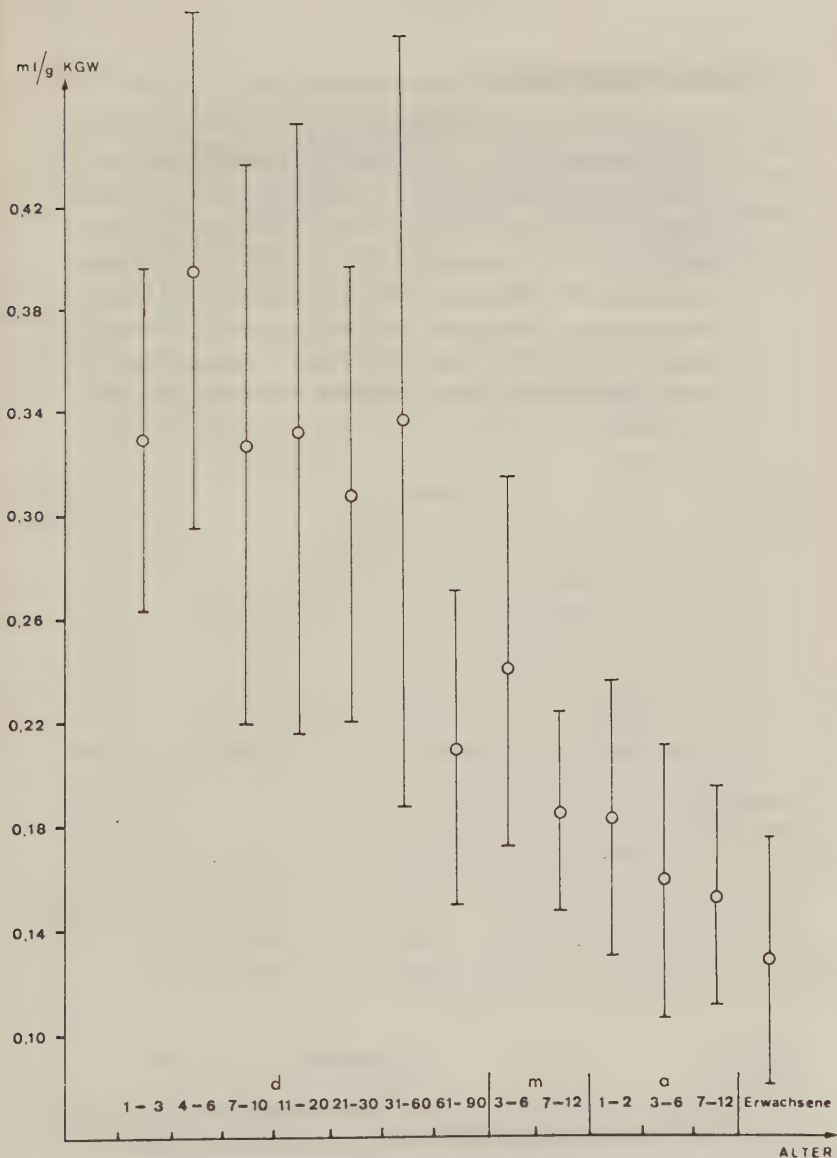


Abb. 4 Mittelwerte und Standardabweichungen des Verteilungsvolumens.
d = Tage, m = Monate, a = Jahre, KGW = Körpergewicht.

4.24 Der Nüchternwert c*

Der Nüchtern-Galaktose-Blutspiegel wurde bei jedem Probanden vor Versuchsbeginn zweimal aus unmittelbar nacheinander entnommenen Blutproben bestimmt. Die Werte des einzelnen Probanden zeigten keine über die Genauigkeit der chemischen Analyse hinausgehende Streuung. Bei den insgesamt 113 Kindern im Alter von einem Tag bis zu zwölf Jahren zeigte sich, daß in den einzelnen Altersgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede des Nüchternwertes bestanden.

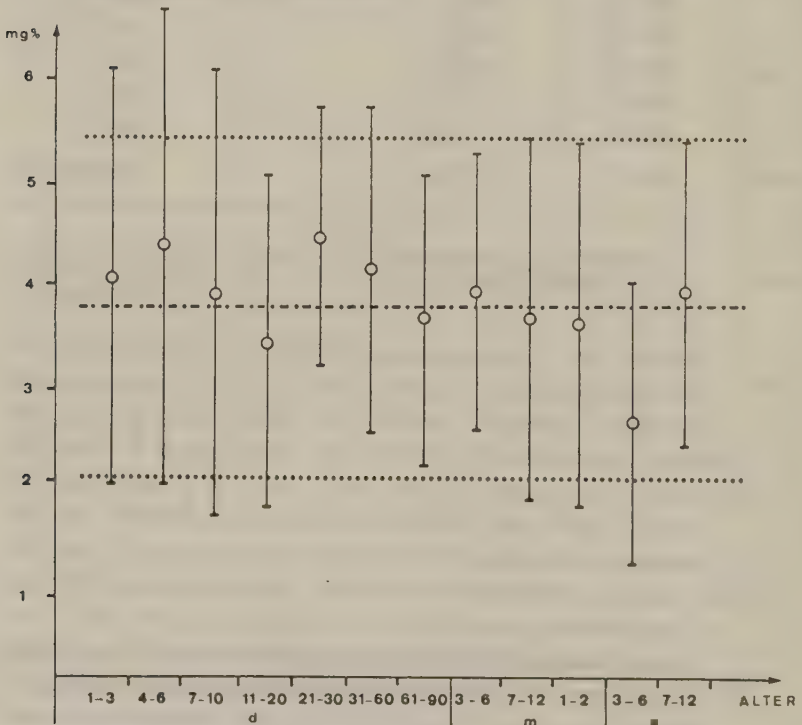


Abb. 5 Mittelwerte und Streubreiten des Nüchtern-Galaktose-Blutspiegels in den einzelnen Altersgruppen.
-.-.-. Mittelwert des Gesamtkollektivs.
..... Streubreiten dieses Mittelwertes.
d = Tage, m = Monate, a = Jahre.

Der mittlere Galaktose-Blutspiegel des Gesamtkollektivs lag mit der Standardabweichung s bei $3,78 \pm 1,65$ mg%. In 6,2 Prozent der Fälle war mit der angewandten Methode keine Galaktose im Serum des nüchternen Probanden nachweisbar. Der höchste Nüchternwert betrug 8,21 mg pro 100 ml, er fand sich in 0,8 Prozent der Fälle.

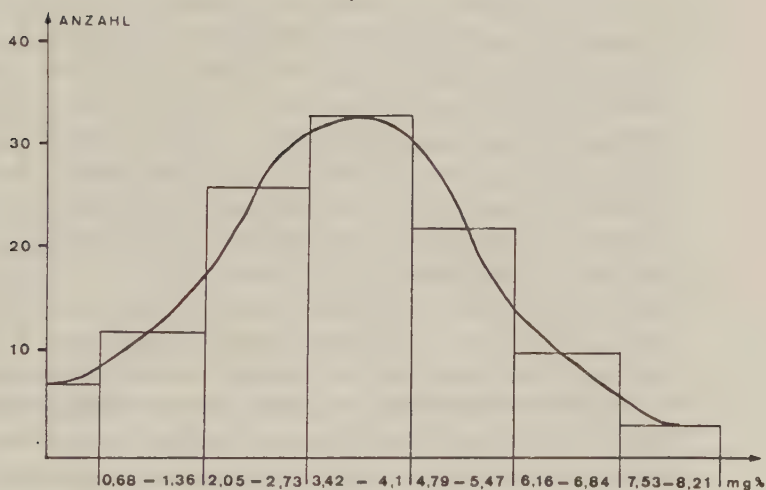


Abb. 6 Der Galaktosenüchternwert folgt der Gauß'schen Kurve; es liegt also eine Normalverteilung vor.

4.25 Pool Pl und Transfer Tf

Bei der Zusammenstellung der Ergebnisse und bei deren statistischer Auswertung zeigte sich, daß sowohl der Pool als auch der Transfer der Galaktose keine Aussagekraft besitzen.

Die Einzelwerte differieren so stark, daß teilweise die Standardabweichungen größer sind als die Durchschnittswerte. Die Ursache hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß die Nüchternwerte sehr niedrig - vor allem im Vergleich zu den Werten nach der intravenösen Belastung - sind.

4.3 Ergebnisse eigener Untersuchungen an kranken Kindern

An zwölf Kindern zwischen 2 6/12 Jahren und 14 2/12 Jahren mit akuter Hepatitis epidemica wurde eine Galaktosebelastung am Tage nach der stationären Aufnahme und kurz vor der Entlassung durchgeführt. Die gewonnenen Ergebnisse zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen dem Stadium der akuten Erkrankung und dem der Rekonvaleszenz. Zur Beurteilung des entsprechenden Krankheitsstadiums wurden die Ergebnisse der Transaminasen-, Bilirubin- und BSG-Bestimmung herangezogen. Im Vergleich der akut an Hepatitis epidemica erkrankten Kindern zu altersgleichen gesunden ergibt sich jedoch ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Durchschnittswerten der Eliminationshalbwertszeit und ein signifikanter Unterschied zwischen den k_2 -Werten (Auswertung nach dem t-Test).

TABELLE 7

Hepatitis akutes Stadium			epidemica Rekonvaleszenz		gesunde, altersglei- che Kinder			
	t _{50%}	k ₂	Δ'	t _{50%}	k ₂	t _{50%}	k ₂	Δ'
1.	7,4	5,63	0,112	-, -	-, -	9,1	4,33	0,162
2.	9,2	4,53	0,121	-, -	-, -	5,1	7,70	0,112
3.	10,4	4,01	0,196	14,2	5,46	8,1	4,95	0,173
4.	12,2	3,41	0,166	7,6	2,92	8,8	4,71	0,143
5.	10,0	4,17	0,141	8,2	5,06	9,4	4,44	0,174
6.	9,4	4,41	0,147	11,2	3,72	9,6	4,33	0,135
7.	13,0	3,21	0,231	9,2	4,53	9,2	4,53	0,182
8.	10,8	3,85	0,151	-, -	-, -	7,5	5,54	0,142
9.	9,6	4,33	0,227	5,2	7,96	8,0	5,21	0,156
10.	14,4	2,88	0,207	-, -	-, -	5,2	7,97	0,156
11.	17,0	2,45	0,242	8,6	4,84	6,2	6,73	0,140
12.	12,8	3,25	0,184	8,6	4,84	9,2	4,53	0,159
$\bar{x}$	11,4	3,84	0,177	9,1	4,92	8,0	5,41	0,153
s	2,6	0,86	0,044	2,6	1,47	1,6	1,32	0,019

Statistische Auswertung der vergleichenden Untersuchungen von Kindern mit Hepatitis epidemica und gesunden Vergleichskindern nach dem t-Test:

	$\bar{d}$	s	t	p
$t_{50\%}$	3,40	2,16	3,86	< 0,001
k_2	- 1,57	1,11	3,45	< 0,01
Δ'	0,024	0,034	1,741	- . - . -

5. DISKUSSION

Zwischen den eigenen Ergebnissen und denen des Schrifttums besteht eine auffällige Diskrepanz. Vor allem betrifft das die Eliminationshalbwertszeit und die Eliminationskonstante.

Die Eliminationshalbwertszeit ist in den hier vorgelegten Untersuchungen gegenüber den Werten im Schrifttum bis auf die Hälfte verkürzt, die Eliminationskonstante ist entsprechend bis zu doppelt so groß. Diese Differenz erklärt sich zwanglos daraus, daß die meisten Autoren ihren Berechnungen Konzentrationswerte zugrunde legen, die zu ungeeigneten Zeiten nach der Injektion gewonnen werden. Die vorgelegten Untersuchungen zeigen zunächst ganz eindeutig auf, daß der Konzentrationsabfall im Serum nicht einheitlich erfolgt. Diese Beobachtung wird auch verschiedentlich von anderen Autoren mitgeteilt, ohne daß jedoch entsprechende Konsequenzen daraus gezogen werden.

Man kann, wie demonstriert wird, drei verschiedene Kurvenabschnitte feststellen. Wichtig ist vor allen Dingen, und deshalb soll dieses hier nochmals hervorgehoben werden, daß ausschließlich der mittlere Kurvenabschnitt B (siehe Abbildung 1) zur Auswertung im pharmakokinetischen Sinne geeignet ist. Nur hier wird die Elimination nicht durch simultan ablaufende Absorptions- oder Verteilungsprozesse beeinflusst. Dieser im halblogarithmischen Raster linear verlaufende Kurvenabschnitt beginnt nach eingetretener Verteilung der inkorporierten Substanz, die maximal zehn Minuten in Anspruch nimmt, und endet zwischen der 26. und 30. Minute. Nur dieser Kurvenabschnitt folgt also einer Exponentialfunktion, einer Funktion erster Ordnung.

Der erste Abschnitt A der Kurve verläuft steiler und häufig irregulär, wie es bei stochastischen Verteilungsvorgängen die Regel ist. Nach der 26. bis 30. Minute flacht sich die Kurve erneut ab, die Elimination wird wiederum gestört. Über die Art dieser Störung können zunächst nur Vermutungen geäußert werden, ihre genaue Analyse würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen; sie ist späteren Untersuchungen vorbehalten.

In Analogie zum Verhalten des Bromsulphaleins (48) und para-Aminohippursäure (3) könnte eine enterale Reabsorption mit erneutem Einstrom von Galaktose in die Blutbahn angenommen werden. Es kann aber auch eine Eröffnung intrazellulärer Räume im Sinne des Effektes einer Vergrößerung des Verteilungsvolumens durch reaktive Insulinwirkung diskutiert werden, wenn man den Gedankengängen ECKERS (15) folgen will.

Auf jeden Fall gibt nur der lineare Kurvenabschnitt zwischen der zehnten und zwanzigsten Minute die reine, ungestörte Elimination wieder, nur er darf zur Bestimmung der Stoffwechselstandardgrößen der Galaktose herangezogen werden.

Da häufig jedoch die Untersuchungszeit bis zur 120. Minute ausgedehnt wurde, müssen zwangsläufig die von den betreffenden Autoren ermittelten Eliminationshalbwertszeiten und Verteilungsvolumina größer als die vorgelegten Werte sein.

Da nach Gleichung (4)

$$k_2 = \frac{\ln 2}{t_{50\%}} = \frac{0,693}{t_{50\%}}$$

die Eliminationshalbwertszeit in den Nenner der Gleichung eingeht,

zeigt die Eliminationskonstante k_2 ein reziprokes Verhalten. Demnach gelten die obigen Ausführungen hier entsprechend.

Um eine genaue, altersentsprechende Verteilung der Eliminationshalbwertzeiten zu erhalten, wurde das Probandenmaterial in zwölf Altersgruppen eingeteilt. Es läßt sich erkennen, daß die Eliminationshalbwertzeiten der reifen Neugeborenen und der sechs- bis zwölfjährigen Kinder etwa gleich sind; sie betragen rund 85 Prozent der Erwachsenenwerte. Dazwischen zeigt sich bis zum sechsten Lebensmonat eine kontinuierliche Verkürzung der Eliminationshalbwertzeit auf 60 Prozent der Erwachsenenwerte, um dann wieder stetig anzusteigen. Mittels der Einweg-Varianzanalyse wird gezeigt, daß sich die Eliminationshalbwertzeiten der einzelnen Altersgruppen statistisch hochsignifikant voneinander unterscheiden ($p < 0,001$).

Exogen zugeführte Galaktose wird hauptsächlich in der Leber metabolisiert. Die Eliminationsvorgänge und vor allem die Geschwindigkeit der Elimination hängen demnach von der Funktionstüchtigkeit der Leber ab. Eine mangelhafte Funktion dieses Organs wird eine Verzögerung der Elimination zur Folge haben und wird also nur bei Krankheit oder bei Unreife der Leber zu beobachten sein. Lebererkrankungen sind durch die Auswahl des Probandenmaterials ausgeschlossen, also muß eine Unreife der Leber die Verlangsamung der Elimination bewirken.

1913 prägte SALGE (37) den Begriff der "werdenden Funktion" für die postnatale Reifung von Stoffwechselleistungen.

Er kam aufgrund des Verhaltens der Salzsäure im Säuglingsmagen zu der Erkenntnis, daß "viele Leistungen im Säuglingsorganismus - in der Anlage vorhanden - sich erst während der ersten Lebenszeit zu wesentlicher Bedeutung entwickeln". Diese Auffassung bestätigte YLLPÖ (49) mit seiner Beobachtung, daß der Ikterus neonatorum auf einer mangelhaften Leberfunktion beruht. Später wurde die These von der werdenden Funktion im Sinne SALGES bestätigt von CAREDU (7), VEST (42), BROWN (6), POMP und Mitarbeiter (32). KITZING und SCHUMACHER (28) führten histochemische Untersuchungen in der Leberzelle durch und fanden postnatal eine zunehmende Enzymaktivität. Bei der Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich während der ersten sechs Lebensmonate eine kontinuierliche Verkürzung der Eliminationshalbwertszeit für Galaktose. Das ist mit einer ständigen Leistungssteigerung der Leber identisch, denn die Eliminationshalbwertszeit ist bei der Verstoffwechselung eines Stoffes durch lediglich ein einziges Organ ein Maß für die Leistungsfähigkeit dieses Organs. Bei der Interpretation der Altersabhängigkeit der Eliminationsgeschwindigkeit für Galaktose muß die Beschleunigung der Elimination während der ersten sechs Lebensmonate als postnataler Reifungsprozeß gedeutet werden.

Diese Deutung kann die vorliegenden Befunde jedoch nicht ausreichend erklären, denn im Gegensatz zu RIND und GLADTKE (34), die bei Untersuchungen der Pharmakokinetik von Sulfonamiden eine Beschleunigung der anfangs deutlich verlängerten Eliminationshalbwertszeiten bis zu den Werten des Erwachsenen fanden,

zeigt sich, daß sich die Eliminationshalbwertszeit der Galaktose deutlich unter die Erwachsenenwerte verkürzt, um im späten Schulalter allmählich an sie heranzukommen. Ähnliche Befunde wurden von KRAUER (29) bei pharmakokinetischen Untersuchungen von Sulfonamiden im ersten Lebensjahr beschrieben. Sie diskutiert außer der Reifung von metabolischen Funktionen noch einen circadianen Rhythmus der Eliminationsgeschwindigkeit. Dies kann allerdings bei den hier vorliegenden Untersuchungen keine Rolle spielen, da die Versuche stets zur gleichen Tageszeit durchgeführt wurden.

Auch dürften die hin und wieder beobachteten altersabhängigen Unterschiede im Wachzustand der Kinder keine ausreichende Erklärung für den Kurvenverlauf geben.

In Analogie zum Verhalten zahlreicher anderer Stoffe darf sicher geschlossen werden, daß die verlangsamte Elimination der Galaktose in den ersten zehn Lebenstagen bei reifgeborenen Säuglingen auf eine Unreife der enzymatischen Leberleistung zurückzuführen sein muß. Der Reifungsprozeß der metabolisierenden Enzyme macht sich in der Zunahme der Eliminationsgeschwindigkeit bemerkbar. Das Maximum der exogenen Galaktosezufuhr liegt unterhalb der ersten sechs Lebensmonate. Die Adaptation der Leber an die Galaktosemetabolisierung wird folglich zu diesem Zeitpunkt am größten sein. Damit erklärt sich das Absinken der Eliminationshalbwertszeit zwischen dem dritten und sechsten Lebensmonat auf fast die Hälfte der Erwachsenenwerte. Erst im späten Schulalter verlängert sich die Eliminationshalbwertszeit der Galaktose wieder, bis schließlich die Erwachsenenwerte erreicht werden.

Die Vermutung liegt nahe, daß die geringere Galaktosezufuhr im späteren Lebensalter eine geringere Belastung, das heißt eine mindere Anforderung im Sinne der Induktion bedeutet. Weitere Untersuchungen werden zu klären haben, ob durch längere Galaktosegabe die enzymatische Leistung zu reaktivieren ist, ob sich zum Beispiel bei reichlicher Galaktosezufuhr eine erneute Induzierung bewirken läßt. Dann müßte unter dieser Maßnahme die Eliminationshalbwertszeit der Galaktose erneut kürzer werden.

Bei der Abhängigkeit der Eliminationskonstanten k_2 von der Eliminationshalbwertszeit gilt hier das Gesagte in entsprechender Form.

Das relative Verteilungsvolumen Δ^1 entspricht während der ersten zwei Lebensmonate dem Thiosulfatraum und damit dem extrazellulären Flüssigkeitsraum des Kindes. Wie GLADTKE (20) ausführt, macht auch der extrazelluläre Flüssigkeitsraum eine gewisse Reifung durch. Unter anderem dadurch bedingt, daß sich die Relation von extrazellulärem Flüssigkeitsraum zur Gesamtzellmasse verändert. Bei den relativen Verteilungsvolumina für Galaktose kommt es allerdings zu einer stärkeren Verkleinerung, als es bei Thiosulfat und p-Aminohippursäure beobachtet wurde. Die einzelnen Teststoffe zur Ermittlung der Größe des extrazellulären Flüssigkeitsraumes, wie zum Beispiel Inulin oder Bromid, Saccharose oder radioaktives Sulfat oder Chlorid oder Natrium erbringen differierende Werte für den extrazellulären Flüssigkeitsraum. Ihre Verteilungsvolumina sind unterschiedlich groß. Einige erfüllen auch tiefe Kompartimente, invasieren zum Teil in Zellen, andere verteilen sich weniger gut.

Ob nun Galaktose zu den letzteren Stoffen gehört oder ob das relativ kleinere Verteilungsvolumen bei alten Kindern eine andere Ursache hat, mag dahingestellt bleiben, obwohl die Größe seines Verteilungsvolumens am ehesten mit der des Inulins korrespondiert.

Bei akut an Hepatitis epidemica erkrankten Kindern schließlich ist die Eliminationshalbwertszeit statistisch signifikant verlängert gegenüber altersgleichen gesunden Probanden.

Wie allgemein im Schrifttum geschildert wird, ist der Unterschied bei älteren Schulkindern und Erwachsenen nicht so ausgeprägt. Dieser Untersuchungsreihe kommt mit zwölf pathologischen Fällen sicher nicht die Aussagekraft zu, die für einen endgültigen Beweis nötig ist. Erheblich verlangsamte Galaktoseeliminationen werden bei Patienten mit Leberzirrhose beschrieben, was sich aus dem dann vorliegenden hohen Prozentsatz an zugrundegegangenen Parenchymzellen ableiten läßt. Eigene Untersuchungen mit solchem Krankengut fehlen, da Zirrhosen bei Kindern extrem selten sind.

Als Suchtest zusammen mit anderen Laboruntersuchungen wie SGOT, SGPT und Bilirubinbestimmung kommt der intravenösen Galaktosebelastung bzw. der Bestimmung der Eliminationshalbwertszeit sicher eine erhebliche Bedeutung zu.

Es ist zu erwarten, daß Patienten mit Galaktosämie, also einem Mangel im galaktoseabbauenden Enzymsystem, deutliche Abweichungen von den Werten des Gesunden aufzeigen. Leider kam während der Durchführung dieser Arbeit

kein derartiges Kind zur Beobachtung.

Von Interesse wäre auch ferner die Frage, ob möglicherweise heterozygote Merkmalsträger sich mit Hilfe der pharmakokinetischen Daten der Galaktose erfassen lassen.

Diese Untersuchungen sind geplant.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Biochemie des Galaktosestoffwechsels mit dem Hauptumsatzort in der Leber besprochen. An insgesamt 114 reifen, gesunden Neugeborenen, Säuglingen und Schulkindern, an zwölf hepatitiskranken Kindern sowie an fünf gesunden Erwachsenen wurde eine intravenöse Galaktosebelastung durchgeführt und ihre Verwendbarkeit als Leberdiagnostikum für das Kindesalter untersucht.

Nach einmaliger intravenöser Injektion von zwanzigprozentiger Galaktoselösung (350 mg Galaktose pro kg Körpergewicht) wurden unter erstmaliger Anwendung eines Mikroliterverfahrens die abfallenden Serumkonzentrationen im Kapillarblut ermittelt. Aus der sich daraus ergebenden Konzentrationsverlaufskurve wurden im halblogarithmischen Raster an Hand des Verfahrens nach DOST die Stoffwechselstandardgrößen für Galaktose ermittelt: Eliminationshalbwertszeit, Eliminationskonstante, relatives Verteilungsvolumen.

Es kann gezeigt werden, daß sich die Eliminationshalbwertszeit bis zum sechsten Lebensmonat auf etwa 70 Prozent des Ausgangswertes der ersten Lebensstage verringert, um diese dann im späten Schulalter wieder zu erreichen. Die Durchschnittskurve der Eliminationskonstanten k_2 in den einzelnen Altersgruppen zeigt ein reziprokes Verhalten. Das relative Verteilungsvolumen Δ^1 entspricht ungefähr dem extrazellulären Flüssigkeitsraum und macht auch dessen Größenänderung mit, die teilweise dadurch bedingt ist, daß sich die Relation von extrazellulärem Flüssigkeitsraum zur Gesamtzellmasse verändert.

Verschiedene Ursachen für den Verlauf der Durchschnittswerte der Eliminationshalbwertszeiten werden diskutiert, offensichtlich ist er Ausdruck einer "werdenden Funktion" der Leber im Sinne SALGES. Für die Eliminationskonstante k_2 gilt Entsprechendes. Auch der extrazelluläre Flüssigkeitsraum macht eine gewisse Reifung durch, wie die Werte des Verteilungsvolumens aussagen.

Im Vergleich von hepatitiskranken Kindern zu altersgleichen gesunden kann eine statistisch signifikante Verlängerung der Eliminationshalbwertszeit bei den leberkranken Probanden nachgewiesen werden.

Es wird die intravenöse Galaktose-Belastung als Suchtest mit anderen leberspezifischen Laboruntersuchungen empfohlen.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 BAUER, R.: Über die Assimilation von Galaktose aus Milchzucker beim Gesunden und Kranken.
Wien. med. Wschr. 56, 20
(1906)
- 2 BERNSTEIN, L.M., J.K. WHEELER, E.E. BOND, M. ROHMSDAHL, N. DOUGHERTY:
The blood galactose disappearance curve as a test of liver function.
Gastroenterology 39, 293
(1960)
- 3 BERTRAM, D., H. RIND, E. GLADTKE:
Die Elimination von para-Aminohippursäure (PAH) beim Kind.
Z. Kinderheilk. 108, 208
(1970)
- 4 BOLLMANN, J.L., F.C. MANN, M.H. POWER:
The utilisation of galactose following complete removal of the liver.
Am. J. Physiol. 111, 483
(1935)
- 5 BRAUNSTEINER, H.: Wirkungsort und -mechanismus der Lipoproteidlipase.
Dtsch. Med. Wschr. 91, 610
(1966)
- 6 BROWN, A.K., W.W. ZUELZER, H.H. BURNETT:
Studies on the neonatal development of the glucuronic conjugation system.
J. clin. Invest. 37, 332
(1958)
- 7 CAREDU, P., M. GIOVANNI, T. APOLLONIO:
Conjugazione enzimatica della bromsulfaleina nel feto e nel neonato.
Acta vitamin (Milano) 15, 245
(1961)

- 8 COLCHER, H., A.J.PATEK jr., F.E. KENDALL:
Galactose disappearance from
the blood stream; calculation
of a galactose removal constant
and its application as a test
for liver function.
J. Clin. Invest. 25, 768
(1946)
- 9 DOMINGUEZ, R., E. POMERENE:
Kinetics of the disappearance of
galactose from the plasma after
a rapid intravenous injection.
Amer. J. Physiol. 141, 368
(1944)
- 10 DOST, F.H.: Grundlagen der Pharmakokinetik.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
1968
- 11 DOST, F.H.: Der Blutspiegel.
Georg Thieme Verlag, Leipzig
1953
- 12 DOST, F.H.: Die Clearance.
Klin. Wschr. 27, 257
(1949)
- 13 DOST, F.H., E. GLADTKE:
Darstellung des metabolischen
Begriffs "Transfer" am Beispiel
einer analogen Einführung von
p-Aminohippursäure (PAH) in das
Blut des Menschen.
Klin. Wschr. 42, 784
(1966)
- 14 DRAUDT, L.: Über die Verwertung von Lactose
und Galaktose nach partieller
Leberausschaltung (Eck'sche Fi-
stel).
Naunyn-Schmiedeburgs Arch. Exp.
Path. Pharm. 72, 457
(1913)

- 15 ECKERT, P.: Der Einfluß von Insulin auf den Galaktosestoffwechsel und das Verhalten der nicht veresterten Fettsäuren des Serums nach Belastung mit Galaktose und Galaktose + Insulin.
Inaugural-Dissertation, Gießen 1968
- 16 FISCHER, W., H. WEINLAND: Stoffwechsel der Galaktose und ihrer Derivate.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1965
- 17 GITZELMANN, R.: Deficiency of erythrocyte galactokinase in a patient with galactose diabetes.
Lancet II, 670 (1965)
- 18 GLADTKE, E.: Mikrolitermethoden in der klinischen Chemie.
Ärztl. Lab. 10, 16 (1964)
- 19 GLADTKE, E.: Die Bestimmung des extrazellulären Flüssigkeitsraumes bei Kindern mit Hilfe von Thiosulfat.
Z. ges. exp. Med. 141, 301 (1966)
- 20 GLADTKE, E.: Der Thiosulfatraum des Kindes.
Arch. Kinderheilk. Beiheft 54, 1 (1966)
- 21 GLADTKE, E., A. SCHOLZ: Kinetische Untersuchungen mit radioaktivem (Fe 59) und nicht-aktivem (Fe 56) Eisen im Serum.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 70, 390 (1964)

- 22 GLADTKE, E.: Reifung von Stoffwechselfunktionen beim Neugeborenen.
Med. Welt 21, 1305
(1970)
- 23 HANSEN, A.T., N. TYGSTRUP, K. WINKLER:
Determination of the hepatic blood flow by galactose.
Danish Med. Bull. 1, 146
(1954)
- 24 ISSELBACHER, K.J.:
Evidence for an accessory pathway of galactose metabolism in mammalian liver.
Science 126, 652
(1957)
- 25 KAEHLER, H.: Beiträge zur Leberfunktionsprüfung.
Med. Klin. 1295
(1925)
- 26 KÄHLER, H., K. MACHOLD:
Über das Verhalten des Blutzuckers nach Einnahme von Galaktose.
Wien. Klin. Wschr. 35, I, 414
(1922)
- 27 KALCKAR, H.M., E.P. ANDERSON, K.J. ISSELBACHER:
Galactosemia, a congenital defect in a nucleotide transferase.
Biochem. Biophys. Acta (Amst.) 20, 262
(1956)
- 28 KITZIG, W., H.H. SCHUMACHER:
Ontogenese und topographische Histochemie der Bernsteinsäuredehydrogenase in der Leber einiger Nager.
Z. Zellforschung 54, 443
(1961)

- 29 KRAUER, B.: Zur Pharmakokinetik der Sulfonamide im ersten Lebensjahr. Pharmacol. Clin. 1, 47 (1968)
- 30 LINNEWEH, F.: Erbliche Stoffwechselkrankheiten, 1. Urban und Schwarzenberg Verlag, München-Berlin 1962
- 31 LUDWIG, H.: Zur Technik der Bewertung der Galaktoseprobe. Z. Klin. Med. 141, 758 (1952)
- 32 POMP, H., M. SCHMOOR, K.J. NETTER: Untersuchungen über die Arzneimitteldemethylierung in der fetalen Leber. Dtsch. Med. Wschr. 94, 1232 (1969)
- 33 REISS, E., W. JEHN: Alimentäre Galaktosurie bei Leberkrankheiten. Dtsch. Arch. Klin. Med. 108, 187 (1912)
- 34 RIND, H., E. GLADTKE: Pharmakokinetische Untersuchungen zur Sulfonamidtherapie bei Trimenonkindern. Mschr. Kinderheilk. 112, 239 (1964)
- 35 ROMMEL, K., E. BERNT, F. SCHMITZ, K. GRIMMEL: Enzymatische Galaktosebestimmung im Blut und oraler Galaktosetoleranztest. Klin. Wschr. 46, 17, 936 (1968)

- 36 ROMMEL, K., K. GRIMMEL, U. SPERLING:
Galaktose-Nüchtern-Blutspiegel
im Erwachsenenalter.
Klin. Wschr. 46, 19, 1042
(1968)
- 37 SALGE, B.:
Salzsäure im Säuglingsmagen.
Z. Kinderheilk. 5, 111
(1913)
- 38 SØNDERGAARD, G.: Micro-method for determination
of blood galactose by means of
glucose oxidase (Notatine) and
anthrone.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 10,
203
(1958)
- 39 TYGSTRUP, N., K. WINKLER:
Kinetics of galactose elimination.
Acta Physiol. Scand. 32, 354
(1954)
- 40 TYGSTRUP, N., K. WINKLER:
Galactose blood clearance as a
measure of hepatic blood flow.
Clin. Sci. 17, 1
(1958)
- 41 UEXKÜLL, Th. v.: Über den diagnostischen Wert der
Blutzuckerkurve nach peroraler
Galaktosebelastung.
Dtsch. Wschr. 11, I, 415
(1939)
- 42 VEST, M., R. SALSBERG:
Conjugation reactions in the
newborn infant.
Arch. Dis. Childhood 40, 97
(1964)
- 43 WALDSTEIN, S.S., L.A. GREENBURG, A.D. BIGGS, L.
CORN:
Demonstration of hepatic maximum
removal capacity (Lm) for galac-
tose in humans.
J. Lab. Clin. M. 55, 462
(1960)

- 44 WALDSTEIN, S.S., R.A. ARGILLA:
Measurement of hepatic blood flow by clearance methods; a review and a theoretical basis for a new noncatherization method.
Amer. J. Dig. Dis. 3, 137
(1958)
- 45 WALLENFELS, K., G. KURZ:
Über die Spezifität der Galakto-
sehydrogenase aus *Pseudomonas*
saccharophila und deren Anwen-
dung als analytisches Hilfsmit-
tel.
Biochem. Z. 335, 559
(1961)
- 46 WALLENFELS, K., O.P. MALHOTRA:
Galactosidases.
Advanc. Carbohyd. Chem. 16, 239
(1961)
- 47 WATSON, D.:
A new method for microanalysis
of blood galactose.
Ann. Biochem. 5, 260
(1963)
- 48 WICHMANN, H.M., H. RIND, E. GLADTKE:
Die Elimination von Bromsulphalein
beim Kind.
Z. Kinderheilk. 103, 262
(1968)
- 49 YLLPÖ, A.:
Ikterus neonatorum und Gallenfarb-
stoffsekretion beim Fetus und Neu-
geborenen.
Z. Kinderheilk. 2, 208
(1913)

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. med. F.H. Dost, möchte ich für sein förderndes Interesse und seine kritischen Anregungen bei dieser Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. med. E. Glatke habe ich sowohl für die Überlassung des Themas zu danken, als auch für die Kritik und Anleitung bei der Abfassung der Arbeit sowie für die wertvollen Ratschläge bei der experimentellen Bearbeitung.

Ebenfalls danke ich Herrn Privat-Dozent Dr. Beckmann für die Beratung in allen statistischen Fragen.

L E B E N S L A U F

Am 11. Februar 1938 wurde ich als Sohn des Kinderfacharztes Dr. med. Egon Kielhorn und dessen Ehefrau Anita, geborene Limpert, in Frankfurt am Main geboren.

In Bad Nauheim besuchte ich die Volksschule und das Realgymnasium.

Im Jahre 1959 begann ich mein Medizinstudium in Heidelberg.

Nach Semestern in Würzburg und Giessen legte ich im Jahre 1966 in Giessen das Staatsexamen ab.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich in den Krankenanstalten in Bad Nauheim und in der Universitätskinderklinik Giessen ab.

Zur Zeit bin ich Assistenzarzt an der Kinderklinik der Justus Liebig-Universität Giessen.

**FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449**